



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Hematologia

Papel do HLA-DPB1 e Aplicabilidade ao Processo de Compatibilidade no Transplante de Células Estaminais Hematopoiéticas

André Miguel Carrusca Parra

DEZEMBRO'2016



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Hematologia

Papel do HLA-DPB1 e Aplicabilidade ao Processo de Compatibilidade no Transplante de Células Estaminais Hematopoiéticas

André Miguel Carrusca Parra

Orientado por:

Dr. Carlos Martins

DEZEMBRO'2016

RESUMO / ABSTRACT

Com a descoberta do sistema HLA, a procura de graus de compatibilidade cada vez maiores entre dadores e receptores de transplantes de células estaminais hematopoiéticas levou a um aumento exponencial na investigação de marcadores que permitam reduzir os efeitos secundários clássicos associados à transplantação e aos procedimentos e terapêuticas subsequentemente necessários. Procura-se, assim, reduzir a probabilidade de ocorrer Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro, potenciar a resposta *Graft versus Leukemia* e reduzir a mortalidade associada ao transplante. Neste trabalho, destaca-se o caso do HLA-DPB1 que é considerado a sexta molécula clássica do sistema HLA. Encontram-se em curso vários estudos com o objectivo de melhor compreender a função desta proteína e a relevância de garantir a sua compatibilidade entre dador e receptor em transplantes de células estaminais hematopoiéticas.

With the discovery of the HLA system, the search for greater compatibility levels between donors and receptors of hematopoietic stem cells transplants resulted in an exponential increase of the investigation of biomarkers that allow the reduction of transplantation-associated classic side effects as well as the decrease of those associated with subsequent procedures and treatments. In that line, there is a search for reducing the probability of occurring Graft versus Host Disease, potentiate the Graft versus Leukemia response, and decrease the transplant-associated mortality. In this review, it is highlighted the HLA-DPB1, which is considered the sixth classical HLA molecule. Nowadays there are several ongoing studies that aim to better understand the function of this protein and the relevance of ensuring its match between donor and receptor in hematopoietic stem cell transplants.

PALAVRAS-CHAVE / KEY-WORDS

HLA-DPB1, Histocompatibilidade, Transplantação, Células Estaminais Hematopoiéticas, Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH)

HLA-DPB1, Histocompatibility, Transplantation, Hematopoietic Stem Cells, Graft versus Host Disease (GvHD)

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.

ÍNDICE

Introdução	5
Sistema HLA	6
Sistema HLA no Transplante de Células Estaminais Hematopoiéticas	8
Nível de Compatibilidade Desejado Actualmente	9
Dados Preferenciais/Convencionais e Dadores Alternativos	10
Papel do HLA-DPB1 no Processo de Compatibilidade	11
Conclusão	14
Agradecimentos	17
Bibliografia	18

INTRODUÇÃO

A descoberta e investigação do sistema de histocompatibilidade HLA veio revolucionar o universo da transplantação de órgãos e tecidos, tendo especial relevância nos transplantes de células estaminais hematopoiéticas. Gradualmente e em paralelo com o desenvolvimento científico-tecnológico, os estudos de histocompatibilidade, actualmente indispensáveis, tornaram-se mais minuciosos e a garantia desta compatibilidade entre receptor e dador é determinante para o sucesso crescente destes transplantes. Ao longo dos anos têm vindo a ser descobertas várias proteínas que participam nas reacções imunológicas desenvolvidas por ambas as partes intervenientes no transplante, isto é, na reacção do hospedeiro contra o enxerto e na reacção do enxerto contra o hospedeiro, no caso de tecidos imunocompetentes, como é o caso das células estaminais hematopoiéticas.

Com este trabalho pretende-se realizar uma revisão da bibliografia mais recente, actualmente disponível acerca deste tema. Este debruçar-se-á, inicialmente, sobre os aspectos básicos da transplantação de células estaminais hematopoiéticas e, de seguida, será aprofundado o papel de uma proteína específica do HLA, a DP, na transplantação, com especial enfoque na relevância da garantia de compatibilidade a nível de uma das suas subunidades, a *beta*, codificada pelo *locus* DPB1.

SISTEMA HLA

O sistema HLA, *Human Leukocyte Antigen*, descoberto em 1958^[1], é um complexo conjunto de mais de 200 genes localizados no braço curto do cromossoma 6 (6p21.3) cujas proteínas, expressas em praticamente todas as células do organismo, formam o MHC, *Major Histocompatibility Complex* ou Complexo Major de Histocompatibilidade, sistema altamente polimórfico^[2]. O papel principal destas proteínas passa pelo reconhecimento e distinção entre proteínas do próprio organismo (*self*) e outras estranhas ao próprio (não-*self*) regulando a resposta imunológica contra antígenos não-*self*. Consequentemente, são actualmente reconhecidas como as principais proteínas responsáveis pela rejeição de órgãos e tecidos, como a medula óssea^{[2][3]}. Existem outras moléculas responsáveis pela rejeição de transplantes, como os Antígenos *Minor* de Histocompatibilidade, os antígenos do sistema AB0 que codifica os diferentes grupos sanguíneos e os antígenos de células endoteliais^[2], que não serão alvo de revisão no presente trabalho.

A hereditabilidade destes genes é relativamente linear, uma vez que os genes do MHC têm localizações próximas no mesmo cromossoma. Assim todo o MHC é transmitido em conjunto, como um “Haplotipo de MHC”, e herdado de forma mendeliana de cada um dos progenitores. Estes genes têm uma taxa de recombinação baixa e não foram observadas mutações em estudos familiares, sendo, por isso, a sua transmissão à descendência considerada previsível^[4].

Este sistema pode ser subdividido em MHC classe I e MHC classe II, tendo cada uma das classes vários *loci* correspondentes a genes *major* ou *minor*, consoante a sua importância. Assim, podem-se agrupar no MHC Classe I os *loci major* HLA-A, -B e -C e os *loci minor* HLA-E, -F e -G. Ao MHC Classe II pertencem os *loci major* HLA-DR, -DQ e -DP e os *loci minor* HLA-DM e -DO^[2] – vide Quadro 1.

	<i>Loci major</i>	<i>Loci minor</i>
MHC Classe I	HLA-A, -B, -C	HLA-E, -F, -G
MHC Classe II	HLA-DR, -DQ, -DP	HLA-DM, -DO

Tabela 1 - Principais genes do MHC

As moléculas do MHC classe I são expressas à superfície de quase todas as células nucleadas, exceptuam-se, portanto, os eritrócitos que apresentam sistemas como o AB0, Rhesus, Duffy, Kell, entre outros. Por outro lado, as moléculas do MHC classe II apenas

são expressas nos linfócitos B, nas células apresentadoras de antígenos, como monócitos, macrófagos e células dendríticas, e nos linfócitos T activados^[4].

A natureza e a origem dos péptidos apresentados pelo MHC determinam em conjunto qual das classes é reconhecida por células T e utilizada para desencadear uma resposta imunológica. O complexo MHC classe I apresenta péptidos sintetizados no interior da célula-alvo, sejam eles da própria célula, transformados, por exemplo por processos de malignidade, ou sejam eles proteínas induzidas por vírus. Em contrapartida, o complexo MHC classe II apresenta fragmentos de péptidos antigénicos exógenos à célula-alvo^[4], por exemplo, após fagocitose e digestão intracelular.

Em relação ao desencadear de uma resposta imunitária, o complexo MHC classe I-péptido é reconhecido pelos receptores de células T (TCR) de linfócitos T CD8⁺, enquanto o complexo MHC classe II-péptido é reconhecido pelos receptores de células T (TCR) de linfócitos T CD4⁺. A este fenómeno de regulação do reconhecimento MHC-péptido-TCR chama-se Restrição do MHC^[4].

Este é um mecanismo primário que serve como base do seu funcionamento do sistema imunitário e a partir do qual se desenvolvem respostas específicas contra grande parte dos agentes agressores.

SISTEMA HLA NO TRANSPLANTE DE CÉLULAS ESTAMINAIS HEMATOPOIÉTICAS

Com a descoberta do sistema HLA e do papel das proteínas do Complexo Major de Histocompatibilidade na rejeição de órgãos e tecidos em transplantes, sobretudo no transplante de células estaminais hematopoiéticas, surgiu a possibilidade de maximizar o *match* entre os diferentes alelos do dador e do receptor.

Para averiguar a compatibilidade entre dador e receptor podem ser utilizados métodos de tipagem serológica colhendo-se sangue periférico para a análise dos antígenos do MHC classe I em linfócitos e dos antígenos do MHC classe II em linfócitos B^[4]. Recentemente, sobrevieram novas e mais sofisticadas técnicas de tipagem baseadas na técnica de *Next Generation Sequencing*^[2], mas estas não serão alvo de escrutínio.

Os efeitos adversos resultantes da incompatibilidade do HLA no *outcome* pós-transplantação dependem de vários factores, entre eles, os mais relevantes: o número de alelos *mismatched*^[3], sendo que o *outcome* se agrava com o aumento do número de *mismatches*^{[3][5][6][7]} – vide Figura 1 –, mas no que concerne ao *mismatch* de um alelo apenas (7/8 ou 9/10), em dadores não relacionados, há informações contraditórias, isto é, existe evidência de resultados semelhantes aos dos casos de *match* perfeito neste mesmo tipo de dadores^{[3][5]}, e, por outro lado, existe também evidência de que a sobrevivência diminui imediatamente apenas com um alelo *mismatched*^{[6][7]}; o locus implicado^[3], tendo os *mismatches* dos loci HLA-C e -DPB1 sido associados independentemente a complicações de recidiva da doença maligna e de DECH, em pares de dadores-receptores com ascendência europeia^{[3][5]}, e por outro lado, os *mismatches* únicos dos loci HLA-A ou -DRB1 são menos tolerados do que os *mismatches* únicos dos loci HLA-B ou -C^[6]; o nível de resolução implicado no *mismatch*, isto é, se se trata de uma incompatibilidade a nível antígeno ou alélico, tendo esta última menor poder imunogénico que a primeira^[3], no entanto os resultados do *outcome* divergem entre estudos, havendo diferenças^[8] ou não^[6]

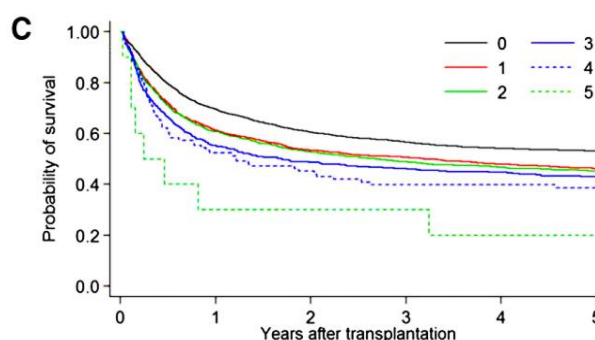


Figura 1 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier em relação com o número de alelos HLA-A, -B, -C, -DRB1 e -DQB1 *mismatched*, a nível alélico^[7]

em relação a este parâmetro; o nível de expressão de cada alelo, sendo que este altera a permissividade de determinado *mismatch*^{[5][9]}.

Nos casos de baixa compatibilidade entre dador e receptor desenvolvem-se frequentemente respostas imunes contra o órgão transplantado, que podem culminar na rejeição do transplante, a curto ou longo prazos. Por outro lado, em casos de tecidos com capacidade imunogénica, como é o da medula óssea, pode-se desenvolver uma reacção destes contra o próprio receptor, sendo esta conhecida como a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro - DECH (*Graft versus Host Disease - GvHD*). Esta pode ser classicamente caracterizada quanto ao tempo da sua evolução como: hiperaguda, em poucos minutos ou horas, em casos de sensibilização prévia aos antígenos, isto é, aloimunização ao HLA da medula enxertada por transfusões de sangue, gravidez ou outros transplantes no passado^[4]; aguda, até ao 100º dia pós-transplantação, mediada principalmente por células T^[4] e com repercussões sobretudo aos níveis cutâneo, intestinal e hepático^[10]; e crónica, após o 100º dia pós-transplantação, mediada principalmente por anticorpos e células^[4].

NÍVEL DE COMPATIBILIDADE DESEJADO ACTUALMENTE

Desde o início da tipagem do HLA, nos anos 80, os *loci* A, B e DR sempre foram conhecidos como antígenos importantes na transplantação e definiram à partida o Nível Mínimo de Compatibilidade Aceitável, com resolução de nível antigénico e compatibilidade de cinco alelos entre os seis possíveis, que se mantem até aos dias de hoje^[11]. A estes veio, em 2005, juntar-se o *locus* C^{[4][11]} e actualmente a tipagem do HLA *standard* é feita para os *loci* A, B, C, DRB1 e DQB1^[3]. Diz-se que um determinado dador é um *match* perfeito ou *10/10 allele match* quando a compatibilidade de todos os alelos respeitantes a estes cinco *loci* é alcançada, o que acontece no caso de o dador ser irmão compatível para ambos os alelos de cada *locus*^[3]. No entanto, o facto de o dador não ser 100% compatível para estes cinco alelos não o exclui como putativo dador, sobretudo se o *mismatch* ocorrer para um alelo apenas^[11].

É de salientar, como já foi referido, que o *mismatch* de um alelo de um dado *locus* pode ter uma importância superior no *outcome* em comparação com o *mismatch* de outro alelo de um outro *locus*. É o caso dos *mismatches* dos alelos dos *loci* A e DRB1 que cursam com piores *outcomes*, quando comparados com os *mismatches* ao nível dos alelos dos *loci* B e C^[6]. Definiu-se, então, o conceito de Permissividade de um determinado *mismatch*, isto é, a facilidade com que estes alelos estranhos e diferentes dos do organismo receptor são

tolerados^[12]. O *mismatch* do *locus* DQ não apresenta resultados tão negativos como os *mismatches* para os quatro principais *loci major* (A, B, C, DR)^[6], sendo um exemplo de um *mismatch* mais tolerável, logo mais permissivo. Todavia, em combinação com outros *mismatches* de diferentes alelos, o seu impacto torna-se mais evidente, podendo este efeito ser cumulativo ou sinérgico. Neste caso, não se deve, portanto, descurar a procurar de um dador que seja também compatível para o HLA-DQ^[11]. Actualmente, é recomendado que o *match* seja garantido para o maior número de alelos possíveis e, para além disso, esta compatibilidade deve ser conseguida com o maior nível de resolução possível.

DADORES PREFERENCIAIS/CONVENCIONAIS E DADORES ALTERNATIVOS

O dador considerado óptimo para transplante de células estaminais hematopoiéticas é um irmão do receptor que tenha ambos os alelos dos cinco *loci* acima mencionados idênticos – *Matched Related Donor (MRD)*. Este tipo de dador, considerado perfeito, encontra-se apenas disponível em cerca de 15 a 30% dos casos, probabilidade tanto maior quanto maior for o número de irmãos do doente. Quando um dador familiar não está disponível, a segunda melhor opção é um dador não relacionado - *Matched Unrelated Donor (MUD)* - com compatibilidade máxima possível (8/8 ou 10/10), que está disponível em 30 a 70% dos casos de acordo com a etnia^{[3][5]}. É de referir que a etnia não é um factor que *per se* influencie o resultado dos *outcomes* primários, mas existe maior probabilidade de se encontrar um *match* perfeito de alta-resolução entre indivíduos da mesma etnia, dada a menor variabilidade de alelos dentro dessa população^[11]. Quer os *MRD* quer os *MUD* são considerados Dadores Convencionais ou Preferenciais. Em ambos os casos, no entanto, o *match* dos Antígenos *Minor* de Histocompatibilidade não está assegurado, pois os seus genes são herdados de forma independente dos do MHC^[5].

Por vezes, nenhuma das opções supracitadas está disponível. Recorre-se, então, a outro tipo de dadores, os Dadores Alternativos. Estes podem ser *Partially Mismatched Unrelated Donors*, isto é, com menor número de alelos compatíveis em relação aos *MUD* ($\leq 7/8$ ou $\leq 9/10$); Dadores Haploidenticos Relacionados, pois com base na hereditabilidade em bloco dos alelos do HLA, qualquer dos progenitores, irmãos ou filhos do doente terá, pelo menos, metade dos alelos dos cinco *loci* idênticos a este último (4-7/8 ou 5-9/10); e Sangue do Cordão Umbilical de dadores não-relacionados (3-6/6)^{[3][5]}. Para qualquer um destes três casos é essencial que os *mismatches* existentes sejam permissivos, isto é, que não gerem uma resposta imunológica importante que leve à rejeição do transplante ou a DECH^[5].

PAPEL DO HLA-DPB1 NO PROCESSO DE COMPATIBILIDADE

A molécula HLA-DP é considerada a sexta molécula clássica do HLA, sendo, a par com as restantes cinco, altamente polimórfica^[13]. Tal como as outras duas moléculas do MHC classe II, a HLA-DP tem igualmente duas subunidades: uma subunidade *alfa*, codificada pelo *locus* HLA-DPA1 e uma subunidade *beta* codificada pelo *locus* HLA-DPB1^[2]. Actualmente, são conhecidos 716 alelos para o *locus* HLA-DPB1, correspondentes a 591 proteínas diferentes^[14]. Para além deste elevado número, existe um factor determinante no processo de compatibilidade deste *locus*, o *Linkage Disequilibrium (LD)*, associação não aleatória de alelos de diferentes *loci*, que altera as probabilidades de compatibilidade. Assim, enquanto que para a maioria do MHC existe um forte e positivo *LD*, isto é certos alelos são encontrados juntos com maior frequência do que aquela que seria de esperar de acordo com a aleatoriedade, para os *loci* HLA-DQB1 e HLA-DPB1 este *LD* é fraco e daí advém a dificuldade em assegurar a sua compatibilidade^[13].

Quando se avalia o impacto no organismo de uma dada molécula do HLA tem que se ter em conta os vários *outcomes* primários, como a DECH, a recidiva, a mortalidade/*Overall Survival*, entre outros. Classicamente, sabe-se que estes *outcomes* se articulam como dois braços de uma balança. Uma maior reactividade do enxerto contra o hospedeiro condiciona uma maior probabilidade de se desenvolver DECH, mas, por outro lado, acompanha-se de um maior efeito *GvL (Graft versus Leukemia)* e, consequentemente, de uma menor probabilidade de recidiva. Por outro lado, se esta reactividade for praticamente inexistente, não se desenvolverá DECH, mas a resposta *GvL* será diminuta, aumentando a probabilidade de recidiva. Pode-se mesmo afirmar que a DECH aguda é um importante factor preditivo inverso de recorrência da doença^[5]. A mortalidade nestes casos advém, principalmente, quer da forte reacção aloimunogénica montada pelo enxerto, quer da recidiva e consequentes tratamentos realizados *a posteriori*, respectivamente.

Diversos estudos mostram que o HLA-DPB1 se comporta como os restantes genes da histocompatibilidade, isto é, que em caso de incompatibilidade deste *locus* existe uma maior probabilidade de se desenvolver uma DECH aguda, sobretudo de graus 2-3 e 3-4, que aumenta com o número de alelos não compatíveis. Assim, também a par com os demais genes, quanto maior a compatibilidade, maior a probabilidade de recidiva. Porém estes efeitos desvanecem-se se houver, concomitantemente, um outro *mismatch* num dos outros *loci* do HLA, pois estes têm um efeito preponderante no *outcome* do transplante.

Quanto à mortalidade, a diferença entre os casos *matched* e *mismatched* para o HLA-DPB1 não é estatisticamente significativa, mas apenas sugestiva de que os casos *matched* têm uma maior sobrevida. Uma das possíveis explicações passa pela mortalidade resultante da DECH aguda, mais frequente nos casos *mismatched*, equivaler à mortalidade resultante da recidiva, que ocorre principalmente em casos *matched*^{[6][13]}.

Verifica-se também que o efeito da disparidade do HLA-DPB1, em casos de compatibilidade 10/10 (HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ), contribui para a resposta *GvL* e que nos casos em que há uma compatibilidade 12/12 (HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ, -DP) existe uma alodisparidade insuficiente para gerar uma resposta *GvL* eficaz. Eventuais casos em que é importante tentar garantir um *match* ao nível deste *locus* são os de doenças em que o risco de recidiva é baixo e o de doentes que não toleram DECH. Todavia, é fundamental ter atenção ao tempo necessário para encontrar um dador que seja o *match* ideal para os doze alelos, sobretudo quando se trata de pessoas em estado de doença avançada ou com doença maligna rapidamente progressiva e agressiva. Este processo de selecção pode ser demorado devido ao elevado número de alelos existentes para o *locus* DPB1, mas também porque existe, como foi já referido, um fraco *linkage desequilibrium* para estes alelos^[13].

Em relação ao DPB1 há a considerar igualmente o fenómeno de permissividade que existe em determinados casos de *mismatch* que se sabe possuírem fraco potencial imunogénico e que, por isso, estão associados a um menor número de complicações^[13]. Estes *Mismatches* Permissivos cursam com menor risco de mortalidade do que os *Mismatches* Não-Permissivos, embora haja estudos que não suportam esta evidência^[5]. Enquanto que os casos de *match* para ambos os alelos do HLA-DPB1 podem levar a um aumento do número de recidivas da doença, os casos de *Mismatches* Não-Permissivos levam a uma exagerada resposta do enxerto contra o hospedeiro (DECH). Os *Mismatches* Permissivos encontram-se num patamar intermédio entre estas duas situações, permitindo obter uma resposta *GvL* suficiente para diminuir o risco de recidiva, à custa de uma DECH suportável^[5]. Uma possível explicação passa pelo facto de o número de células T activadas necessário para produzir uma resposta *GvL* ser menor do que aquele necessário para desencadear uma resposta do enxerto contra o hospedeiro. Embora tenha sido demonstrado em modelo animal, ainda não foram feitos estudos em humanos que provem conclusivamente este achado^[5].

Vários estudos mostram que o *mismatch* do HLA-DPB1 resulta na indução de DECH aguda e resposta *GvL* significativas, e, conseqüentemente, em menos recidivas, embora

não houvesse uma diferença significativa em relação à mortalidade^{[5][7]}. Este efeito protector em relação à recidiva em casos de *mismatch* para o *locus* DPB1 é único deste *locus*, não se verificando quando os *mismatches* ocorrem para os outros *loci major* do MHC classe II, *loci* DR e DQ^[5].

Segundo Morishima *et al.*^[7] o efeito do *mismatch* do *locus* HLA-DPB1 ao nível da resposta crónica contra o hospedeiro (DECH crónica) é independente do efeito *GvL*, admitindo-se que os mecanismos imunológicos gerados pelo reconhecimento do HLA-DP por células T podem diferir daqueles que culminam na DECH crónica.

Em caso de *mismatch* do HLA-DPB1, devem ser considerados os níveis de expressão alélica. Nestes casos, elevados níveis de expressão do gene DPB1 podem conduzir a uma resposta do enxerto contra o hospedeiro mais forte do que nos casos em que a expressão é diminuta^[5].

Outra questão presentemente alvo de investigação é a presença e importância de anticorpos contra proteínas do HLA. De acordo com Spellman *et al.*^[15], aproximadamente um terço dos doentes seguidos possui anticorpos contra os antígenos HLA e os anticorpos anti-HLA-DP são bastante frequentes (positivos em cerca de 60% dos doentes cujos enxertos, maioritariamente de medula óssea, foram mal sucedidos), o que sugere que ainda que o *match* para o *locus* HLA-DPB1 possa não influenciar a mortalidade, esta reacção contra o enxerto pode condicionar o sucesso de *engraftment*.

Também em investigação encontra-se uma terapia biológica baseada no HLA-DPB1. Expressa à superfície da maioria das células leucémicas, esta molécula é candidata a tornar-se um alvo celular para células T específicas, podendo potenciar a resposta *GvL*^[13].

O HLA-DP é um determinante clássico para os resultados da transplantação e que este deverá ser tido em conta, em casos seleccionados, na procura do nível de compatibilidade desejado. O desafio clássico de obter um baixo nível de DECH concomitantemente com uma resposta *GvL* adequada mantém-se. Para tal há vários aspectos a ter em conta, sendo que muitos deles ainda estão pouco estudados, encontrando-se sob investigação corrente.

CONCLUSÃO

Actualmente o *mismatch* do *locus* HLA-DPB1 em transplantação é frequente^[6] e os mecanismos que estão na origem da DECH neste contexto são desconhecidos. Um estudo recente de Petersdorf *et al.*^[9] mostrou que este *mismatch per se* não é suficiente para desencadear DECH, mas que poderá ter um efeito deletério quando o organismo receptor possui um elevado nível de expressão do alelo e o dador tem um baixo nível de expressão desse mesmo alelo.

O *mismatch* de alelos de pequena relevância como o DPB1 pode ser visto como uma forma de diminuir o risco de recidiva em doentes com doença agressiva e recidivante. No entanto, pela análise de alguns estudos realizados, não se encontram diferenças estatisticamente significativas no que toca à mortalidade de indivíduos sujeitos a transplante, mas apenas nos riscos de DECH e de recidiva.

A difícil compreensão do conceito de permissividade, dos seus mecanismos subjacentes e dos resultados obtidos até aos dias de hoje sobre a influência do *match* ou *mismatch* para o *locus* HLA-DPB1 advém da complexidade de diferentes factores, relacionados com a técnica e procedimentos inerentes à transplantação, que influenciam o *outcome* destes transplantes de células estaminais hematopoiéticas, como são os casos do *match/mismatch* para outros *loci* do HLA e do nível de resolução da análise; do tipo de doença e do seu estágio de progressão; do sexo e da idade quer do dador quer do receptor; da serologia para citomegalovírus; da origem das células estaminais, isto é, medula óssea, sangue periférico ou do cordão umbilical; do regime de condicionamento prévio, mieloablativo ou condicionamento de intensidade reduzida (*RIC – Reduced-Intensity Conditioning*); da profilaxia da DECH, com Tacrolimus ou Ciclosporina, presença ou ausência de células T no enxerto, tipo de depleção utilizado, *in vivo* ou *ex vivo*, infusão pós-transplante de células T reguladoras CD25⁺ purificadas do dador, entre outros factores. Serão portanto, necessários mais estudos, com maiores dimensões e nos quais se tenha acesso a toda esta informação sobre doença, receptor, dador e procedimentos efectuados, para que os resultados sofram o mínimo viés possível e as conclusões retiradas sejam estatisticamente significativas^[5]. No entanto, segundo Lee *et al.*^[6], o efeito dos *mismatches* em diversos alelos do HLA era o mesmo independentemente da idade do doente, estado da doença, utilização de métodos de depleção de células T, entre outros factores. Para além disto não havia associação entre idade do dador, paridade do dador, serologia para citomegalovírus

do dador e sexo do dador e a sobrevivência, conclusões que contrariam as de Fleischhauer e Beelen^[5]. A associação entre a disparidade ou compatibilidade de alelos e os resultados obtidos variam entre os diferentes estudos analisados, o que pode ser eventualmente atribuído às diferenças no desenho dos vários estudos e às suas características heterogéneas respeitantes à doença, ao doente, ao dador e aos procedimentos e tratamentos efectuados.

Por outro lado, o único factor intrinsecamente relacionado com o doente, e que pode ser potencialmente modificável pelo médico, é o estado da doença, ou seja, quanto mais rápida for a actuação do clínico na decisão de prosseguir efectivamente para o transplante de células estaminais hematopoiéticas como tratamento para a doença maligna, prevenindo a evolução para estádios intermédio ou avançado, maiores são as probabilidades de bom *outcome*. Deste modo, mesmo que haja um dador cuja compatibilidade não seja perfeita, este deve ser considerado como potencial dador, dado que o tempo necessário para a selecção do dador e, conseqüentemente, a rapidez do transplante influenciam grandemente o *outcome*, ao que se soma a procura morosa e, potencialmente, infrutífera de um *match* perfeito^[6]. Nessas situações delicadas, deve ser feita uma análise personalizada e cuidada do caso clínico, discutindo com o doente as implicações das opções disponíveis.

Para além dos referidos seis *loci* clássicos da histocompatibilidade do HLA, podem existir outros *loci* que não foram ainda descobertos e cuja relevância da compatibilidade entre dador e receptor para o sucesso seja ainda desconhecida. Daí que uma das hipóteses propostas para maximizar a compatibilidade passe pelo *matching* do haplotipo do HLA^[11], como já acontece nos casos de dadores familiares, garantindo, desse modo, a compatibilidade de eventuais genes ainda desconhecidos. No entanto, apesar dos estudos conduzidos neste sentido, a informação é escassa quanto às vantagens deste método.

Também poderá ser considerada a pesquisa de anticorpos anti-HLA específicos com o objectivo de prever o nível de sucesso do *engraftment*.

As *guidelines* mais recentes, de 2008, do *National Marrow Donor Program*[®] dos Estados Unidos da América^[11], aconselham que a pesquisa de compatibilidade entre dador e receptor

HLA Locus	Search Strategy	Matching	Resolution of Testing
A	Yes	Recommended	High
B	Yes	Recommended	High
C	Yes	Recommended	High
DRA	No	No	
DRB1	Yes	Recommended	High
DRB3, DRB4, DRB5	Yes (DRB1 association)*	Unknown†	
DQA1	No	No	
DQB1	Yes (DRB1 association)*	Uncertain‡	
DPA1	No	No	
DPB1	No	Uncertain	

Tabela 1 – Estratégia de Tipagem e *Matching* de Doentes e Potenciais Dadores para os diferentes *loci*^[11]

deve passar pela análise dos *loci* HLA-A, -B, -C e -DRB1, não sendo clara a recomendação para a compatibilidade dos *loci* HLA-DQB1 e -DPB1 (*vide* tabela 1).

Apesar de a informação já disponível sobre o HLA-DPB1 permitir concluir que este tem um papel na resposta imunológica, os esforços para a tipagem ao nível deste *locus* não são tão profícuos quanto desejável devido a vários aspectos, entre eles, a necessidade de utilizar técnicas sofisticadas de sequenciação de ADN, a enorme variabilidade de polimorfismos deste *locus* e o fraco *linkage disequilibrium*, o que resulta numa alta taxa de *mismatches* e baixa probabilidade de encontrar e estudar pares compatíveis para o referido *locus*^[13].

Seria crucial, para o conhecimento e compreensão da actividade do HLA-DP e dos efeitos específicos na doença, desenhar um estudo com uma grande amostra e no qual fossem eliminados alguns dos factores de confundimento já mencionados. Seria também importante compreender melhor os mecanismos fisiopatológicos da DECH e da resposta GvL de forma a intervir específica e separadamente sobre cada um deles.

Outro aspecto que poderá ajudar à compreensão das funções do HLA-DP é o conhecimento dos efeitos do *match* e *mismatch* ao nível do *locus* HLA-DPA1, dado este contribuir também para a formação da proteína e para a sua função.

Para além disso, devem ser realizados mais estudos para averiguar com maior grau de certeza o efeito dos *mismatches* permissivos do HLA-DPB1. Em relação aos *mismatches* não permissivos existe já alguma informação, suficiente para concluir que estes conduzem a maiores níveis de DECH e taxas de mortalidade e que, por isso, devem ser evitados. Deve-se então garantir uma compatibilidade de alta resolução a nível dos HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ e evitar os *mismatches* não-permissivos do -DP^[16].

Dada a actualidade e relevância do tema, o elevado número de estudos em curso e os seus resultados deve haver um esforço para se permanecer actualizado em relação às mais recentes descobertas e conclusões, mas, como foi explanado neste trabalho, continua a haver contradições entre estudos diferentes no que respeita ao papel do alelo DPB1 nos *outcomes* principais da transplantação.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, aos meus amigos, ao meu orientador Dr. Carlos Martins e ao Dr. João Lacerda.

BIBLIOGRAFIA

- [1]Irene Park, Paul Terasaki, Origins of the first HLA specificities, Human Immunology, Volume 61, Issue 3, March 2000, pp 185-189
- [2]Mahdi, B.M. (2013) A glow of HLA typing in organ transplantation. Mahdi Clinical and Translational Medicine 2:6
- [3]Nowak, J. (2008) Role of HLA in hematopoietic SCT. Bone Marrow Transplantation 42, S71-S76
- [4]Choo, S.Y. (2007) The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. Yonsei Medical Journal 48, No. 1, pp. 11-23
- [5]Fleischhauer, K., Beelen, D.W. (2016) HLA mismatching as a strategy to reduce relapse after alternative donor transplantation. Seminars in Hematology 53, 57-64
- [6]Lee, S.J., et al. (2007) High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. Blood Journal 110:4576-4583
- [7]Morishima, Y., et al. (2015) Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation. Blood Journal 125:7:1189-1197
- [8]Greinix, H.T., et al. (2005) Impact of HLA class I high-resolution mismatches on chronic graft-versus-host disease and survival of patients given hematopoietic stem cell grafts from unrelated donors. Bone Marrow Transplantation 35:57-62
- [9]Petersdorf, E.W., et al. (2015) High HLA-DP Expression and Graft-versus-Host Disease. The New England Journal of Medicine 373:7
- [10]Garnett, C., et al. (2013) Treatment and management of graft-versus-host disease: improving response and survival. Therapeutic Advances in Hematology 4(6):366-378
- [11]Bray, R.A., Hurley, C.K., Kamani, N.R., Woolfrey, A., Müller, C., Spellman, S., Setterholm, M., Confer, D.L. (2008) National Marrow Donor Program HLA Matching Guidelines for Unrelated Adult Donor Hematopoietic Cell Transplants. Biology of Blood and Marrow Transplantation 14:45-53

^[12]Zino, E., et al. (2004) A T-cell epitope encoded by a subset of HLA-DPB1 alleles determines nonpermissive mismatches for hematologic stem cell transplantation. Blood Journal 103:4:1417-1424

^[13]Shaw, B.E., et al. (2007) The importance of HLA-DPB1 in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. Blood Journal 110:4560-4566

^[14]<http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>, acedido a 6 de Novembro de 2016

^[15]Spellman, S., et al. (2010) The detection of donor-directed, HLA-specific alloantibodies in recipients of unrelated hematopoietic cell transplantation is predictive of graft failure. Blood Journal 115:13:2704-2708

^[16]Nagler, A. (2014) HLA-DPB1 matching: are we there yet? Blood Journal 124:14:2476-2477